

平成 21 年 4 月 1 日現在

研究種目：特別推進研究
 研究期間：2004～2008
 課題番号：16002010
 研究課題名（和文） 減数分裂における制御機構
 研究課題名（英文） Regulatory mechanisms of meiosis
 研究代表者
 山本 正幸 (YAMAMOTO MASAYUKI)
 東京大学・大学院理学系研究科・教授
 研究者番号：40114706

研究成果の概要：分裂酵母を材料に減数分裂を制御する分子機構を解析し、減数分裂のための遺伝子の mRNA にはそれらを栄養増殖時には細胞から選択的に取り除くための目印が埋め込まれていることを発見し、またそれらが減数分裂時には減数分裂マスター制御因子 Mei2p によって安定化されるメカニズムを解明した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
16 年度	81,900,000	24,570,000	106,470,000
17 年度	57,500,000	17,250,000	74,750,000
18 年度	47,300,000	14,190,000	61,490,000
19 年度	53,500,000	16,050,000	69,550,000
20 年度	42,700,000	12,810,000	55,510,000
総計	282,900,000	84,870,000	367,770,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・分子生物学

キーワード：RNA／細胞周期／減数分裂

1. 研究開始当初の背景

減数分裂は、生殖細胞で染色体数を半減させ、また染色体間に高頻度で遺伝情報の交換をもたらす有性生殖のための重要な過程である。進化に寄与した仕組みであり、減数分裂の制御機構の解明は生命のより深遠な理解へと我々を導く。研究代表者らは分裂酵母を材料に、減数分裂の開始と進行を司る減数分裂のマスター制御因子である RNA 結合タンパク質 Mei2p を同定していた。また減数分裂に特異的に必要とされる mRNA が体細胞分裂周期で転写されても安定に細胞内に蓄積されない現象を観察していた。

2. 研究の目的

(1) 減数分裂に必要な mRNA には栄養増殖時にそれらを積極的に不安定化する領域が組み込まれていることを予備的に認めていた。この新しい制御の詳細を明らかにし、減数分裂開始シグナルに呼応して mRNA の安定化を図る機構を明らかにする。
 (2) 栄養源を識別して減数分裂を誘導する情報伝達経路の解明を図る。特に、外界の状態と細胞の生理状態をつなぐとされる TOR キナーゼが分裂酵母の有性生殖の制御において果たしている役割を解き明かし、栄養状態の識別に関わる TOR の分子機能に迫る。

3. 研究の方法

研究代表者らが永年解析し、減数分裂研究の最前線にある材料の分裂酵母を主要な研究対象とし、分子遺伝学、生化学、細胞生物学的技法をあわせて、課題に取り組む。

(1) 減数分裂のための mRNA の不安定化に関わる因子を明らかにする。またそれらと減数分裂マスター制御因子 Mei2p の機能の関連を追究する。

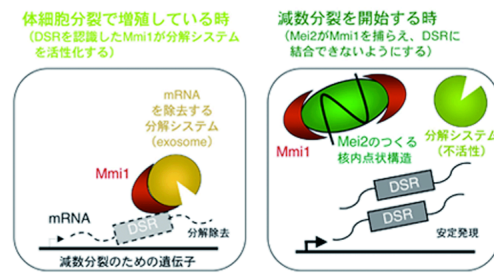
(2) 分裂酵母のもつ2つのTORキナーゼ Tor1p と Tor2p につき、構成するTOR複合体の差異、関係する情報伝達経路上の因子、有性生殖の制御におけるそれぞれの機能の使い分けなどを解明し、栄養源識別との関わりを明らかにする。

4. 研究成果

(1) 分裂酵母において減数分裂に必要とされるいくつかの mRNA には、それらを体細胞分裂周期において積極的に不安定化させる領域 (DSR; Determinant of selective removal) が組み込まれていることを先行研究で認めていた。本研究では分子遺伝学的スクリーニングによりこの不安定化機構に関わる主要な因子の同定に成功し、Mmi1p と命名した。Mmi1p は YTH ファミリーに属する新規 RNA 結合タンパク質で、DSR に特異的に結合する能力をもっていた。Mmi1p を欠くと細胞は生育に著しい遅れを見せ、Mmi1p の温度感受性株は高温で十数種の減数分裂特異的遺伝子の mRNA を蓄積した。これらことから、Mmi1p は、栄養増殖期に減数分裂特異的 mRNA を取り除く働きを果たしていることが分かり、その働きがないと不必要な減数分裂のための遺伝子が発現して細胞の生育が乱されることが分かった。さらに Mmi1p と相互作用する因子を探索し、リボヌクレアーゼ複合体である exosome が Mmi1p と共同して働くことを明らかにした。この新しい制御機構を「mRNA の選択的除去」と名づけて提唱した。

Mmi1p の細胞内局在を調べたところ、体細胞分裂で増殖している細胞では核内の数カ所に点状に散在しているが、減数分裂に入ると核内の一点に集結することが明らかとなった。しかもその点は、我々が先に明らかにしていた、減数分裂マスター制御因子 Mei2p が減数第一分裂を誘導する際に核内に作るドット構造と一致していた。Mei2p は meiRNA と呼ぶ non-coding RNA と、第 II 染色体の meiRNA 遺伝子座位で複合体を構築するが、その分子機能は永らく謎として残っていた。さらに Mei2p と Mmi1p の相互作用を示すいくつかの補強データを得て、次のような制御機構を提案した。「減数分裂を誘導する際には Mei2 ドットが Mmi1p を引きつけて Mmi1p を減数分裂特異的遺伝子の mRNA から隔離し、それによって減数分裂に必要とされる mRNA が安定

に存続して機能を発揮できるようになる。」これを模式的に表したものを次図に示す。



mRNA の選択的除去による
減数分裂制御の模式図

以上の研究成果により、その減数分裂制御における重要性が指摘されながらこれまで分子機能が特定できなかった Mei2p につき、少なくともその役割の一部が解明できた。これらの成果を基に、選択的除去のより詳細なメカニズムや Mmi1p と DSR の相互作用について現在さらに研究が進展中である。

(2) TOR は外界の状況を細胞の生理状態に反映させるのに中心的な役割を果たすプロテインキナーゼとして知られている。分裂酵母のTORキナーゼは相対的に解析が遅れていたが、我々が以前に減数分裂の誘導との関わりで解析していた因子が TOR そのものであることが判明し、また他のものは TOR 複合体の構成因子であったことから、本研究において分裂酵母 TOR キナーゼ経路の解析に本格的に取り組んだ。

その結果、分裂酵母における2種のTOR複合体 TORC1 と TORC2 について、前者が Tor2p を含み、後者が Tor1p を含むことなど、サブユニットの基本構成を解明することができた。また、TORC1 が栄養増殖を促進して有性生殖を抑えるのに対して、TORC2 は逆に有性生殖を促進するのに不可欠であるという興味深い事実が明らかになった。さらに、TORC1 の機能が欠損すると、栄養が豊富な条件でも分裂酵母は減数分裂を行ってしまうことを発見したが、その際、細胞内では窒素源飢餓に曝された時とよく似たパターンの遺伝子発現が誘導されていることを明らかにした。

UCLA のグループとの共同研究で、TORC1 に含まれる触媒サブユニット Tor2p につき多数の活性化型変異を同定し、対応する変異が動物の TOR (mTOR) でも活性化型変異となることを示した。以上の成果は、分裂酵母では動物と同じく TOR の上流の制御因子として TSC1/TSC2-RHEB が働いているという知見と相俟って、分裂酵母に TOR 研究の最適モデル材料のひとつという地位を与えるのに貢献している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 16 件)

- ① Kimata, Y., Trickey, M., Izawa, D., Gannon, J., Yamamoto, M., and Yamano, H.: A mutual inhibition between APC/C and its substrate Mes1 required for meiotic progression in fission yeast. **Dev. Cell** 14, 446-454 (2008). (査読有)
- ② Otsubo, Y., and Yamamoto, M.: TOR signaling in fission yeast. **Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.** 43, 277-283 (2008). (査読有)
- ③ Matsuo, T., Otsubo, Y., Urano, J., Tamanoi, F., and Yamamoto, M.: Loss of the TOR kinase Tor2 mimics nitrogen starvation and activates the sexual development pathway in fission yeast. **Mol. Cell. Biol.** 27, 3154-3164 (2007). (査読有)
- ④ Urano, J., Sato, T., Matsuo, T., Otsubo, Y., Yamamoto, M., and Tamanoi, F.: Point mutations in TOR confer Rheb-independent growth in fission yeast and nutrient-independent mammalian TOR signaling in mammalian cells. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 104, 3514-3519 (2007). (査読有)
- ⑤ Harigaya, Y., and Yamamoto, M.: Molecular mechanisms underlying the mitosis-meiosis decision. **Chromosome Res.** 15, 523-537 (2007). (査読有)
- ⑥ Kohda, T. A., Tanaka, K., Konomi, M., Sato, M., Osumi, M., and Yamamoto, M.: Fission yeast autophagy induced by nitrogen starvation generates a nitrogen source that drives adaptation processes. **Genes Cells** 12, 155-170 (2007). (査読有)
- ⑦ Harigaya, Y., Tanaka, H., Yamanaka, S., Tanaka, K., Watanabe, Y., Tsutsumi, C., Chikashige, Y., Hiraoka, Y., Yamashita, A., and Yamamoto, M.: Selective elimination of messenger RNA prevents an incidence of untimely meiosis. **Nature** 442, 45-50 (2006). (査読有)
- ⑧ Yamashita, A., and Yamamoto, M.: Fission yeast Num1p is a cortical factor anchoring dynein and is essential for the horse-tail nuclear movement during meiotic prophase. **Genetics** 173, 1187-1196 (2006). (査読有)
- ⑨ Otori, M., Karashima, T., and Yamamoto, M.: The *Caenorhabditis elegans* homologue of *Deleted in Azoospermia* is involved in the sperm/oocyte switch. **Mol. Biol. Cell** 17, 3147-3155 (2006). (査読有)
- ⑩ Hasegawa, E., Karashima, T., Sumiyoshi, E. and Yamamoto, M.: *C. elegans* CPB-3 interacts with DAZ-1 and functions in multiple steps of germline development. **Dev. Biol.** 295, 689-699 (2006). (査読有)
- ⑪ Izawa, D., Goto, M., Yamashita, A., Yamano, H., and Yamamoto, M.: Fission yeast Mes1p ensures the onset of meiosis II by blocking degradation of cyclin Cdc13p. **Nature** 434, 529-533 (2005). (査読有)
- ⑫ Tanaka, K., Kohda, T., Yamashita, A., Nonaka, N., and Yamamoto, M.: Hrs1p/Mcp6p on the meiotic SPB organizes astral microtubule arrays for oscillatory nuclear movement. **Curr. Biol.** 15, 1479-1486 (2005). (査読有)
- ⑬ Yamashita, A., Sato, M., Fujita, A., Yamamoto, M., and Toda, T.: The roles of fission yeast Asel in mitotic cell division, meiotic nuclear oscillation and cytokinesis checkpoint signaling. **Mol. Biol. Cell** 16, 1378-1395 (2005). (査読有)
- ⑭ Maruyama, R., Endo, S., Sugimoto, A., and Yamamoto, M.: *C. elegans* DAZ-1 is expressed in proliferating germ cells and directs proper nuclear organization and cytoplasmic core formation during oogenesis. **Dev. Biol.** 277, 142-154 (2005). (査読有)
- ⑮ Huang, Y. S., Karashima, T., Yamamoto, M., and Hamaguchi, H.: Molecular-level investigation of the structure, transformation, and bioactivity of single living fission yeast cells by time- and space-resolved Raman spectroscopy. **Biochemistry** 44, 10009-10019 (2005). (査読有)
- ⑯ Niccoli, T., Yamashita, A., Nurse, P. and Yamamoto, M.: The p150-Glued Ssm4p regulates microtubular dynamics and nuclear movement in fission yeast. **J. Cell Sci.** 117, 5543-5556 (2004). (査読有)

[学会発表] (計 11 件)

主要な国際会議招待講演のみ表記。他に国内学会での発表等が約 80 件ある

- ① Yamamoto, M.: Regulation of mitosis-meiosis decision in fission yeast. Asia-Pacific Regional S. pombe Meeting, July 25-17, 2008, Singapore
- ② Yamamoto, M.: Molecular basis to remove meiotic mRNAs selectively in mitotic fission yeast cells. Gordon Research Conference on Meiosis, June 8-13, 2008, New London, New Hampshire, U.S.A.
- ③ Yamamoto, M.: Initiation of meiosis in fission yeast. The 8th European Meiosis Meeting in Japan, September 13-18, 2007, Hayama, Japan
- ④ Yamamoto, M.: Selective elimination of mRNA as a novel paradigm for the regulation of meiosis. The Fourth International Fission Yeast Meeting, June 11-16, 2007, Copenhagen, Denmark
- ⑤ Yamamoto, M.: Selective elimination of messenger RNA as a switch between the mitotic and meiotic cell cycles in fission yeast. International Symposium "Ribosomes: From Structure to Gene Expression and Beyond", April 19-20, 2007, Irvine, California, U.S.A.
- ⑥ Yamamoto, M.: Regulation of sexual development by TOR complexes in fission yeast. The second International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest, March 25-28, 2007, Okinawa, Japan
- ⑦ Yamamoto, M.: Selective elimination of mRNA provides a novel paradigm for the regulation of meiosis. RNA 2006 IZU, December 3-7, 2006, Izu, Japan
- ⑧ Yamamoto, M.: Molecular mechanism to eliminate meiosis-specific mRNA selectively in growing fission yeast cells. Gordon Research Conference on Meiosis, June 11-16, 2006, New London, New Hampshire, U.S.A.
- ⑨ Yamamoto, M.: Selective elimination of meiotic mRNAs in mitotically growing fission yeast cells. Cell Regulations in Division and Arrest Workshop, March 6-9, 2006, Okinawa, Japan
- ⑩ Yamamoto, M.: Identification of a novel RNA-binding protein that destabilizes meiosis-specific mRNAs during mitotic growth in fission yeast. The 7th

European Meiosis Meeting, September 13-18, 2005, Madrid, Spain

- ⑪ Yamamoto, M.: Novel factors regulating sexual differentiation in fission yeast. The Third International Fission Yeast Meeting, August 24-29, 2004, San Diego, California, U.S.A.:

[図書] (計 3 件)

- ① 伊澤大介、山本正幸「減数分裂周期における細胞周期制御機構」実験医学 (羊土社) 23, 1404-1410 (2005).
- ② 山下朗、張ヶ谷有里子、山本正幸「減数分裂を制御する RNA-RNA 結合蛋白質」蛋白質核酸酵素 (共立出版) 51, 2443-2449 (2006).
- ③ 張ヶ谷有里子、山下朗、田仲加代子、山本正幸「体細胞分裂周期では減数分裂特異的 mRNA が選択的に除去されている」蛋白質核酸酵素 (共立出版) 52, 1-10 (2007).

[その他]

ホームページ等

<http://www.biochem.s.u-tokyo.ac.jp/yamamoto-lab/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 正幸 (YAMAMOTO MASAYUKI)
東京大学・大学院理学系研究科・教授
研究者番号: 40114706

(2) 研究分担者

(平成 16 年~18 年 10 月)

田仲 加代子 (TANAKA KAYOKO)
東京大学・大学院理学系研究科・講師
(現: 英国レスター大学)

研究者番号: 80345264

(平成 16 年~20 年 3 月)

山下 朗 (YAMASHITA AKIRA)
東京大学・大学院理学系研究科・助教
研究者番号: 30312276

(平成 19 年 1 月~平成 20 年 3 月)

佐藤 政充 (SATO MASAMITSU)
東京大学・大学院理学系研究科・助教
研究者番号: 50447356

(3) 連携研究者

(平成 20 年度)

山下 朗 (YAMASHITA AKIRA)
東京大学・大学院理学系研究科・助教
研究者番号: 30312276

(平成 20 年度)

佐藤 政充 (SATO MASAMITSU)
東京大学・大学院理学系研究科・助教
研究者番号: 50447356